

TRATAMENTOS ANTIFÚNGICOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE FAVA D'ANTA

Nayara Fonseca do Nascimento, Gabriela Cristina Costa Silva, Fernando Gustavo dos Reis Freitas, Nilza de Lima Pereira Sales, Leticia Renata de Carvalho, Christian Dias Cabacinha e Christiano Cesar Souza Garcia de Carvalho

RESUMO: Os objetivos deste trabalho foram caracterizar a qualidade sanitária e fisiológica das sementes de *Dimorphandra mollis* Benth. em lotes provenientes de quatro procedências, investigar a influência dos fungos presentes nas sementes sob a qualidade fisiológica e avaliar tratamentos antifúngicos. A análise sanitária foi realizada pelos métodos Blotter test e plaqueamento em BDA. Na patogenicidade dos fungos foi utilizado o método de suspensão de esporos. As sementes foram submetidas aos tratamentos com o fungicida Carboxina/Tiram, óleos essenciais de citronela e alecrim-pimenta e hipoclorito. Os principais fungos verificados nas sementes foram: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Phomopsis* sp. e *Cladosporium* sp. O lote de Uberlândia apresentou menor taxa de germinação. Os fungos *A. flavus* e *A. niger* foram patogênicos à *D. mollis*, causando redução na germinação e vigor das sementes. A inoculação com *Penicillium* sp. proporcionou aumento na germinação das sementes. Foram obtidos bons resultados com o uso do óleo essencial de alecrim-pimenta.

INTRODUÇÃO

O cerrado do Brasil é considerado dentre as savanas mundiais a que apresenta a maior riqueza florística, sendo muitas espécies consideradas endêmicas (RATTER et al., 2003; MINISTERIO DO MEIO AMBIENTE, 2021) e, portanto, considerada uma área prioritária no que concerne a conservação da biodiversidade mundial. Além disso, encontra-se constante ameaça devido à ocupação desordenada que já transformou mais da metade da vegetação nativa em locais antropizados (MITTERMEIER et al., 2005; MINISTERIO DO MEIO AMBIENTE, 2021).

Dentre as espécies arbóreas ameaçadas de extinção no cerrado, destaca-se a *Dimorphandra mollis* Benth., conhecida popularmente por fava d'anta e pertencente à família *Fabaceae-Caesalpinioideae*. Sua ampla ocorrência no cerrado do Brasil compreende os estados do Pará, Goiás, Mato Grosso, São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul. Esta espécie é empregada desde a confecção de caixas, brinquedos, compensados, painéis, lenha, carvão, bem como no paisagismo. Suas cascas contêm alta concentração de tanino, substância adstringente muito utilizada na fabricação de curtumes e com aplicações farmacológicas, além de ser uma espécie recomendada para plantio em áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 2008; SOUZA et al., 2017).

Porém, apesar de todas as aplicações atribuídas a *D. mollis*, uma das principais utilidades desta espécie é o seu uso medicinal. Especialmente pela presença de um composto pertencente ao grupo dos flavonoides conhecido como rutina, que está presente na casca e pericarpo dos frutos. Essa substância química é utilizada pela indústria farmacêutica para produção de medicamentos que atuam no tratamento de varizes, hemorróidas, problemas de circulação, acne e também apresentam função antioxidante (LORENZI; MATOS, 2002; GONÇALVES et al., 2010).

A exploração da *D. mollis* pela indústria farmacêutica tem ocasionado extrativismo predatório em alta escala, sendo necessárias medidas para a conservação da espécie (LANDIM; COSTA, 2012; NUNES et al., 2012). No ano de 2015, a rutina e quercetina, que podem ser extraídas da *D. mollis* e a pilocarpina, renderam US\$1.638.108,00 para o Brasil até o mês de fevereiro (ABIQUIFI, 2015). Nesse contexto, estratégias para evitar a degradação ambiental das áreas exploradas bem como ações de recuperação ambiental, devem ser realizadas (NUNES et al., 2012).

Uma maneira de recuperar áreas degradadas e preservar as espécies vegetais é através do enriquecimento por meio de plantio de mudas de espécies nativas (BALLESTRERI et al.,

2021). A produção em larga escala de mudas enfrenta dificuldades no que diz respeito à necessidade de obtenção de mudas de qualidade, que são diretamente dependentes de sementes de qualidade. A qualidade está diretamente relacionada à sua sanidade. A semente é capaz de abrigar e transportar microrganismos, sendo estes patogênicos ou não (BARROCAS; MACHADO, 2010). Tais sementes estão sujeitas a vários danos, dentre eles, aqueles causados por fitopatógenos, especialmente fungos (SOUSA et al., 2012). Estes micro-organismos são capazes de colonizar as sementes, podendo reduzir sua capacidade germinativa e seu vigor, tornando-se necessário, conhecer esses agentes, as consequências decorrentes da sua contaminação e buscar maneiras eficientes de realizar o tratamento destas.

O uso de óleos essenciais e de extratos de plantas medicinais tem apresentado eficiência quanto ao controle de leveduras e fungos filamentosos. Esse controle de fitopatógenos pode ocorrer por ação fungitóxica direta, inibição do crescimento micelial e inibição da germinação de esporos (SOUSA et al., 2012; PEIXINHO et al., 2017). A ação do óleo e extrato vegetal se deve, em muito casos, a pequenos terpenóides e compostos fenólicos como timol, carvona, carvacrol, mentol e muroleno, que na forma pura, também exibem atividade antifúngica (LIMA; CARDOSO, 2007; GOMES et al., 2011; MIRANDA et al., 2016). O alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) apresenta timol e carvacrol, já a citronela (*Cymbopogon nardus* L. Rendle.) apresenta os compostos citronelal e o geraniol, que também apresentam atividade antimicrobiana (MARTINS et al., 2002; SEIXAS et al., 2011).

Neste contexto, os objetivos deste trabalho foram caracterizar a qualidade sanitária e fisiológica das sementes de *Dimorphandra mollis*, de diferentes procedências do estado de Minas Gerais; investigar a influência de fungos no desempenho das sementes e, avaliar tratamentos antifúngicos utilizando óleos essenciais e fungicida.

METODOLOGIA

Locais de coleta

As sementes de *D. mollis* foram coletadas no mês de julho de 2013, provenientes de quatro procedências, constituídas por diferentes localidades de Minas Gerais: Município de Cônego Marinho – S 15° 18.719' W 44°31.407' altitude 678 m, município de Água Boa – S 16°5402.1' W 44°1134,1' altitude 684 m, comunidade Olhos D'água (Montes Claros) – S 16°53'34,2'' W 43°53'20'' altitude 956 m e a cidade de Uberlândia – S 18°55.893' W 47°43.564' altitude de 1001 m, caracterizando assim os tratamentos em questão para a análise sanitária. Para as análises de patogenicidade e tratamento das sementes foi utilizado apenas o

lote coletado em Olhos D'água por apresentar maior disponibilidade de sementes. As sementes foram acondicionadas em sacos de papel e armazenadas em local seco em temperatura ambiente (29 °C).

Análise sanitária

As sementes foram desinfestadas superficialmente com o uso de hipoclorito de sódio 2% e enxaguadas três vezes em água destilada esterilizada. Foram realizados experimentos independentes para cada método testado. O método *Blotter test* (BRASIL, 2009a) e em meio BDA.

O segundo método foi constituído pela distribuição de sementes em placas de Petri de 150 mm de diâmetro, contendo o meio Batata Dextrose Ágar (BDA). Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado em ambos os métodos, utilizando 100 sementes por tratamento. O experimento em *Blotter test* foi arranjado com cinco repetições constituídas por caixas gerbox, contendo 20 sementes cada.

Para o experimento em meio BDA foram utilizadas quatro repetições compostas por placas contendo 25 sementes cada. As caixas gerbox e placas de Petri foram acondicionadas em incubadora tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.) a uma temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, por 13 dias, quando então foi realizada a avaliação da microflora.

A avaliação da presença das estruturas fúngicas foi realizada com auxílio de estereomicroscópio e, quando necessário, foram observadas ao microscópio óptico para confirmação do fungo identificado.

Análise fisiológica

As sementes de *D. mollis* foram submetidas à escarificação mecânica com lixa para ferro nº 50 na extremidade oposta à micrópila até atingir os cotilédones. Em seguida foram tratadas com fungicida por 5 minutos, para evitar interferência por infestação fúngica (PACHECO et al., 2010). As sementes foram semeadas em caixas gerbox, contendo o substrato vermiculita, autoclavada a 121°C e umedecida com água destilada esterilizada. Após a semeadura, foram incubadas em germinador do tipo B.O.D. a uma temperatura constante de 30°C e fotoperíodo de 8 horas de luz/16 horas de escuro (PACHECO et al., 2010). A semeadura foi realizada no substrato, e as sementes foram cobertas com uma camada de aproximadamente 1cm de vermiculita.

O número de sementes germinadas foi avaliado diariamente, adotando como critério de germinação a protusão da radícula. A porcentagem de germinação foi contabilizada (BRASIL, 2009b).

Patogenicidade

A patogenicidade dos fungos isolados das sementes foi testada pelo método de inoculação de suspensão de esporos. Para isso, os isolados fúngicos foram selecionados a partir daqueles de maior ocorrência, detectados na análise sanitária das sementes. As culturas de trabalho foram obtidas a partir do cultivo dos fungos em meio BDA. Antes da inoculação, foi realizada a quebra de dormência das sementes conforme metodologia descrita por Pacheco et al. (2010). Para a obtenção da suspensão de esporos dos fungos, foram transferidos discos de 5 mm de diâmetro retirados das margens de colônias das culturas de trabalho para novas placas de Petri contendo meio BDA (SALES; CASTRO, 1994). Todas as placas de trabalho foram acondicionadas em incubadora a uma temperatura de 25°C, sob fotoperíodo de 12 horas por sete dias.

O inóculo foi constituído de uma suspensão de esporos, para cada fungo-teste. A suspensão foi preparada adicionando-se 10 ml de água destilada a cada placa com as culturas puras e com o auxílio de um escalpelo fez-se a raspagem da superfície da colônia. A colônia despreendida foi vertida em um béquer com 90 ml de água destilada, para se obter uma suspensão inicial contendo micélios e esporos de 100 ml. Foi adicionada uma gota de tween 80 (espalhante) para cada 100 ml de suspensão. Em seguida a suspensão foi filtrada em duas camadas de gaze, e a concentração foi ajustada para 2×10^5 esporos/ml, por meio de contagem em câmara de Neubauer e diluições em água destilada esterilizada.

As sementes de *D. mollis* foram desinfetadas em hipoclorito de sódio 2% por dois minutos e enxaguadas por três vezes em água destilada esterilizada, 24 horas antes da inoculação. Posteriormente foram imersas na suspensão de inóculo por trinta minutos e, após este período, foram semeadas em bandeja de polietileno com o substrato vermiculita, previamente autoclavada a 121°C durante 60 minutos, três vezes consecutivas, com um intervalo de 24 horas entre cada esterilização. As bandejas foram acondicionadas em B.O.D. em fotoperíodo de 8 horas, a 30 °C por 20 dias (PACHECO et al., 2010).

Avaliou-se a germinação das sementes conforme metodologia anteriormente descrita no experimento de análise fisiológica. Procedeu-se, posteriormente, o reisolamento dos fungos em placas de Petri com meio BDA, a partir das partes da planta que apresentaram sintomas. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de

25 sementes.

Tratamento das sementes

O óleo essencial de alecrim-pimenta (*L. sidoides*) utilizado para o teste de tratamento de semente foi cedido pelo Laboratório de Plantas Medicinais do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. O óleo essencial de citronela (*C. nardus*) foi adquirido em farmácia de manipulação. Testaram-se os seguintes tratamentos: T1 - fungicida com princípio ativo de Carboxina/Tiram a 2% por 5 minutos (PACHECO et al., 2010); T2 - óleo essencial de alecrim-pimenta a 5 µl/mL por 15 minutos; T3 - óleo de alecrim-pimenta a 10 µl/mL por 15 minutos; T4 - óleo de citronela a 5 µl/mL por 15 minutos; T5 – óleo de citronela a 10 µl/mL por 15 minutos; T6 - hipoclorito a 2%; e T7 - testemunha (sem tratamento das sementes). Para a obtenção das soluções dos óleos essenciais foi preparado inicialmente uma solução estoque, contendo 99 mL de água destilada esterilizada e 1mL de Tween 80 ® (Polisorbato 80) a 1% v/v.

De acordo com metodologia de Aquino (2012) e Soares et al., (2011), com modificações, para o preparo da concentração de 1 µl/ml, foram acrescentados 100 µl do óleo essencial em 100 mL de solução estoque. As demais concentrações foram obtidas proporcionalmente a 5 e 10 µl/mL. Em seguida as sementes foram colocadas em contato com as soluções dos óleos por 15 minutos, sendo agitadas constantemente com o auxílio de um bastão de vidro. Após as sementes serem submetidas aos tratamentos montou-se o teste de sanidade pelo método *Blotter test*, a fim de verificar a eficiência na redução da micoflora das sementes. Para tal, foram distribuídas 20 sementes sobre duas folhas de papel mata borrão, previamente esterilizadas em autoclave a 121°C por 15 minutos e umedecidas com Ágar-água (1%) (BRASIL, 2009a), e acondicionadas em caixas gerbox desinfetadas com álcool 70% e hipoclorito a 2%. Todo o procedimento foi realizado em condições assépticas em câmara de fluxo laminar. Em seguida as sementes foram mantidas em incubadoras do tipo B.O.D. a uma temperatura constante de 25°C ± 2°C e fotoperíodo de 12 horas, por 7 dias.

Foram avaliados o número de sementes contaminadas e os diferentes fungos identificados em cada tratamento. A avaliação da presença das estruturas fúngicas foi realizada com auxílio de estereomicroscópio e, quando necessário, foram confirmadas por meio de observações das preparações microscópicas do fungo, ao microscópio óptico. O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado com sete tratamentos e quatro repetições com 20 sementes cada.

Análise estatística

Os dados foram previamente submetidos a testes de normalidade e homogeneidade por meio dos testes de *Lilliefors* e de *Cochran*, respectivamente. Foi realizada análise de variância e as médias comparadas pelo teste de *Tukey* a 5% de probabilidade, na análise sanitária e no tratamento das sementes. As médias dos dados de patogenicidade foram analisadas pelo teste Scott-Knott 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise sanitária

Pelo método *Blotter test* foi detectada a ocorrência de 10 diferentes isolados fúngicos, oito identificados em gênero e dois em espécie (Tabela 1). Os fungos de maior ocorrência entre os lotes foram *Aspergillus flavus*, *A. niger*, “fungo não identificado” e *Phomopsis* sp.

Tabela 1. Ocorrência (%) de fungos associados às sementes de *Dimorphandra mollis* Benth. submetidas ao método *Blotter test*, provenientes de quatro procedências de Minas Gerais.

Fungos	Porcentagem de ocorrência (%)			
	Uberlândia	Olhos D'Água (Montes Claros)	Cônego Marinho	Água Boa
<i>Aspergillus flavus</i>	41	18	34	11
<i>Aspergillus niger</i>	29	32	11	66
Fungo não identificado	20	15	8	14
<i>Chaetomium</i> sp.	0	0	0	2
<i>Cladosporium</i> sp.	0	0	0	3
<i>Curvularia</i> sp.	0	0	3	3
<i>Helminthosporium</i> sp.	2	0	0	0
<i>Penicillium</i> sp.	3	0	10	0
<i>Phoma</i> sp.	1	0	0	0
<i>Phomopsis</i> sp.	11	0	33	2

Na análise sanitária pelo método de plaqueamento em meio BDA, foi detectado presença de bactérias em alguns tratamentos e 8 isolados fúngicos: *A. flavus*, *A. niger*, *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Penicillium* sp. e *Phomopsis* sp. Os fungos de maior ocorrência foram *A. flavus*, *A. niger*, *Phomopsis* sp. e *Cladosporium* sp.

Dentre os fungos detectados, *Phomopsis* sp. apresenta potencial patogênico, pois trata-se de um fungo relacionado à redução no desempenho germinativo e podridão de sementes em

essências florestais (SALES; CASTRO, 1994). Em estudos relacionados à patogenicidade deste gênero, Walker et al., (2013) constataram sua influência na germinação e vigor de sementes de angico-vermelho, coletadas de diferentes procedências. Neste estudo, ao inocular *Phomopsis* sp. nas sementes, os autores verificaram diferença no número de plântulas normais emergidas em relação as sementes não inoculadas, causando lesões necróticas escuras nos bordos dos folíolos e observou-se a presença de frutificações negras (picnídios) sobre as lesões, após o reisolamento. Mazarotto et al., (2019) identificaram fungos do gênero *Phomopsis* em todos os lotes avaliados com sementes de Peroba rosa (*Aspidosperma polyneuron*), além disso foi observado a transmissão desse fungo causando danos às mudas.

O gênero *Aspergillus* é comumente encontrado em sementes armazenadas e se desenvolve em grãos com baixo teor de água (GOLDFARB et al., 2010) e a sua alta ocorrência pode estar relacionada ao tempo em que as sementes ficaram armazenadas, possibilitando a incidência de fungos desse gênero. Ao inocular fungos do gênero *Aspergillus* em sementes de aroeira, Araújo et al., (2013) verificaram a ocorrência de apodrecimento tanto nas sementes quanto nas plântulas originadas por elas. O mesmo foi observado por Sales e Castro (1994) que constataram, em sementes de Ipê e barbatimão, que *Aspergillus* sp. foi prejudicial a germinação e desenvolvimento das plântulas. Botelho, Moraes e Menten (2008) observaram que dentre os fungos mais transmitidos às plântulas pelas sementes de ipê-roxo e amarelo estavam incluídos *Aspergillus* spp. e *Phomopsis* sp.

O “fungo não identificado” não desenvolveu estruturas reprodutivas que permitissem seu reconhecimento por análise morfológica, apresentando somente micélios de coloração branca. O uso de técnicas alternativas, como métodos baseados em extração de DNA, conforme já adotado por Balini et al., (2015) em sementes de soja e milho, pode ser uma alternativa viável para a identificação deste fungo.

Altos índices de contaminação em sementes de *D. mollis*, também foram detectados em estudos desenvolvidos por Araujo et al., (2009) e Giuliano et al., (2005).

Foi detectada a presença de “fungo não identificado” em todos os lotes, sua identificação não foi possível, pois o mesmo não desenvolveu estruturas reprodutivas que permitissem seu reconhecimento por análise morfológica, apresentando somente micélios de coloração branca. Com relação à porcentagem de sementes contaminadas, não houve diferença estatística entre os lotes (Tabela 2), apresentando alto grau de contaminação em todas as procedências.

A forma como as sementes são coletadas e armazenadas, também pode influenciar a contaminação fúngica das mesmas (FERREIRA, 1989). Araujo et al. (2009) verificaram uma maior contaminação nas sementes de frutos coletados no solo, onde a fonte de inoculo é maior.

Porém, no presente experimento, independente da procedência, os frutos foram coletados da mesma forma, nas árvores e solo, sendo misturados no momento da coleta o que pode ter proporcionado elevada contaminação dos lotes.

Como já ressaltado, os gêneros *Aspergillus* sp. e *Phomopsis* sp. são responsáveis por causar danos às sementes e plântulas de espécies florestais, já o fungo *Cladosporium* sp., embora identificado em sementes de espécies florestais por vários estudos (BOTELHO; MORAES; MENTEN, 2008; MARTINELLI-SENEME et al., 2006; KOBAYASTI et al., 2011; AIMI; ARAUJO; MUNIZ, MARLOVE FÁTIMA BRIÃO WALKER, 2016; BRESSAN et al., 2018; SALDANHA et al., 2020), pouco se sabe a respeito do seu potencial patogênico.

Tabela 2. Porcentagem de sementes de *Dimorphandra mollis* Benth. oriundas de quatro procedências, contaminadas por fungos e analisadas pelo experimento em Blotter test.

Procedência	Sementes contaminadas por fungos (%)
Água Boa	96 a
Cônego Marinho	88 a
Olhos D'água (Montes Claros)	88 a
Uberlândia	75 a
CV (%)	18,99

CV= Coeficiente de variação; Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Análise fisiológica

As sementes provenientes do lote de Uberlândia apresentaram menor porcentagem de germinação em relação aos demais lotes, que não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 3).

Tabela 3. Características fisiológicas avaliadas nas quatro procedências de sementes de *Dimorphandra mollis* Benth.

Lotes	Germinação (%)	Mortalidade (%)	IVG
Água Boa	86,67 a	3,33 a	4,29 a
Olhos D'água (Montes Claros)	71,67 a	13,33 ab	3,50 a
Cônego Marinho	66,66 a	13,33 ab	3,65 a
Uberlândia	33,33 b	28,33 b	4,35 a
CV (%)	17,39	26,59	8,95

IVG = Índice de velocidade de germinação; CV= Coeficiente de variação; Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A menor porcentagem de germinação no lote proveniente de Uberlândia em relação aos demais lotes pode estar relacionado à grande quantidade de sementes e plântulas que foram deterioradas nesse tratamento durante o teste de germinação. Essa deterioração foi causada por uma bactéria, ainda não identificada, que, embora tenha sido detectada em todos os lotes, as

sementes provenientes de Uberlândia apresentaram uma maior vulnerabilidade. Esse microorganismo foi detectado durante a análise sanitária pelo método de plaqueamento em BDA. A infecção provocada pela bactéria fez com que o lote procedente de Uberlândia, apresentasse alta taxa de mortalidade, o que acarretou um aumento no coeficiente de variação do experimento, com relação à mortalidade das plantas, conforme verificado na Tabela 3.

Embora tenham apresentado valores estatisticamente semelhantes, esta avaliação de vigor não condiz com os resultados finais de germinação, pois tal método considera apenas a quantidade de sementes que iniciaram a germinação (protusão de radícula) em função do número de dias decorridos da instalação do experimento, ou seja, sem considerar fatores que possam influenciar a germinação no decorrer do desenvolvimento da plântula.

Patogenicidade

Pelo método de inoculação por suspensão de esporos foi verificado que os fungos afetaram a germinação e o desenvolvimento das plântulas, visto o grande número de plântulas anormais e mortas (Tabela 4).

Tabela 4. Número de plântulas normais, anormais e mortas de *Dimorphandra mollis* Benth. após serem inoculadas com os fungos.

Fungos	Plântulas (%)		
	Normais	Anormais	Mortas
Testemunha	3,00 b	51,00 a	46,00 b
<i>Penicillium</i> sp.	36,00 a	58,00 a	6,00 c
<i>Aspergillus flavus</i>	0,00 b	9,00 b	91,00 a
<i>Aspergillus niger</i>	6,00 b	24,00 ab	70,00 ab
CV (%)	20,78	23,45	15,69

CV= Coeficiente de variação; Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As sementes de *D. mollis*, sem inoculação, deram origem a um pequeno número de plântulas normais, um grande número de plântulas anormais e mortas, sugerindo a baixa qualidade sanitária das sementes, bem como baixa qualidade fisiológica das sementes. Essa baixa qualidade das sementes pode ter sido ocasionada pela presença de fungos considerados de armazenamento (WALKER et al., 2013), como o *A. flavus* e *A. niger*, presentes no lote em questão.

A inoculação das sementes com os fungos *A. flavus* e *A. niger*, potencializaram a morte, comprovando a sua patogenicidade. Esses fungos podem causar perda do poder germinativo, descoloração, apodrecimento e também aumento da taxa de respiração, em função do aumento

da taxa de ácidos graxos que provoca rancificação de óleos e aquecimento da massa das sementes (MACHADO, 1988). Desta forma, estes fungos são capazes de influenciar a produção final de mudas em consequência das perdas pelo apodrecimento de sementes (CHEROBINI et al., 2008).

Quando inoculadas com *Penicillium* sp. as sementes apresentaram um maior número de plântulas normais e um menor índice de mortalidade comparada a testemunha, ou seja, o fungo promoveu um efeito positivo sobre a germinação. Isto pode ser explicado devido à ação benéfica de alguns fungos associados à semente, que degradam o endocarpo, o que pode facilitar a emergência de plântulas saudáveis, mesmo estando completamente colonizadas com fungos como *Pestalotia* sp., *Cladosporium* sp. e *Penicillium* sp. (GRIGOLETTI JÚNIOR et al., 1999; FOWLER; BIANCHETTI, 2000). Também pode ser explicada pelo fato de que algumas espécies do gênero *Penicillium* serem capazes de produzir penicilina, que é reconhecidamente um antibiótico, o que pode ter impedido o desenvolvimento da bactéria das sementes e favorecido assim a formação de plântulas normais (NATHWANI; WOOD, 1993).

Tratamento das sementes

O tratamento químico com o fungicida Carboxina/Tiram (T1) foi o mais eficiente na redução da porcentagem de sementes de *D. mollis* contaminadas (Tabela 5).

Tabela 5. Porcentagem média (%) de sementes de *Dimorphandra mollis* Benth. contaminadas por fungos, após tratamento com diversos produtos.

Tratamentos	Sementes contaminadas (%)
T1 - Carboxina/Tiram	11,25 c
T2 - Alecrim-pimenta 5 µl/mL	57,5 b
T3 - Alecrim-pimenta 10 µl/mL	58,75 b
T4 - Citronela 10µl/mL 5 µl/mL	82,5 a
T5 - Citronela 5µl/mL 10 µl/mL	95,5 a
T6 - Hipoclorito 2%	98,75 a
T7 - Testemunha	100 a
CV (%)	19,78

CV= Coeficiente de variação; Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Soares et al. (2011), também verificaram que o fungicida Carboxina/Tiram erradicou completamente os fungos em sementes de *D. mollis* e proporcionou uma maior porcentagem de germinação e IVG. No presente estudo foi constatado que o uso do fungicida colaborou para a germinação de sementes de *D. mollis*, já que diminui a infestação de fungos durante o teste de germinação, na análise fisiológica. O segundo melhor tratamento foi com o uso do óleo

essencial de alecrim-pimenta, nas duas dosagens testadas T2 (5 µl/mL) e T3 (10 µl/mL) (Tabela 5). Estes tratamentos foram capazes de reduzir em mais de 40% a contaminação das sementes.

Os tratamentos com citronela (T4 e T5, respectivamente), nas dosagens testadas e, apenas com uso de hipoclorito de sódio 2% (T6) não reduziram os fungos incidentes nas sementes. O hipoclorito pode ter sido ineficiente devido à concentração testada, visto que em outros trabalhos foi capaz de reduzir a incidência de fungos de armazenamento (Pinheiro et al., 2016).

Com relação ao óleo de citronela, outros trabalhos constataram a sua eficácia contra fitopatógenos (SOUZA JÚNIOR et al., 2009; SEIXAS et al., 2011; SARMENTO-BRUM et al., 2013), sendo necessários novos estudos para verificar a ação de outras concentrações deste óleo. Apesar de eficiente, o uso indiscriminado e contínuo de agrotóxicos pode trazer diversos problemas à saúde humana e ao meio ambiente, além de gerar resistência nos patógenos (LEE et al., 2008; SOYLU et al., 2010).

Logo, o emprego de extratos vegetais e óleos essenciais com potencial antifúngico têm se constituído uma das alternativas que vem sendo pesquisadas (PEIXINHO et al., 2017). Exemplo disso é a confirmação de Leite et al. (2012), de que o uso de óleo essencial de *Pimpinella anisum* L. e extrato vegetal de *Allamanda blanchetti* L. e *Momordica charantia* L. possibilitou o aumento da taxa de germinação em sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) e foi considerado viável para o tratamento contra os patógenos de sementes. Bem como os extratos aquosos de *Allium sativum* L e *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown que também apresentaram atividade antifúngica sobre vários fungos como *A. flavus*, *A. niger*, *Aspergillus* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium* sp. (ARAÚJO et al., 2019).

CONCLUSÃO

Os fungos *A. flavus*, *A. niger*, *Phomopsis* sp., *Cladosporium* sp. e fungo não identificado, foram os de maior ocorrência nas sementes de *D. mollis*. Dentre os fungos identificados foram observados fungos considerados potencialmente patogênicos.

O lote proveniente de Uberlândia apresentou menor porcentagem de germinação em relação aos demais. O fungo *Penicillium* sp. potencializou a germinação de sementes de *D. mollis*. E os fungos *A. flavus* e *A. niger* inibiram a germinação de sementes dessa espécie.

O tratamento com fungicida foi o que promoveu maior redução nos fungos das sementes, porém, o uso de óleo essencial de alecrim-pimenta nas concentrações avaliadas também apresentou uma redução satisfatória, indicando sua eficiência, entretanto, é necessário testar outras concentrações, visando um controle maior dos patógenos associados a sementes

de *D. mollis*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Codevasf pelo apoio técnico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIQUIFI. Associação Brasileira da Indústria Farmoquímica. 2015. Disponível em: <http://abiquifi.org.br/abiquiflashes-30032015-366>. Acesso em: 25 de out de 2015.

AIMI, S. C.; ARAUJO, M. M.; MUNIZ, M. F. B.; WALKER, C. Teste de sanidade e germinação em sementes de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. Ciência Florestal, 26 (4): 1361–1370, 2016.

ARAÚJO, A. V. et al. Germinação, vigor e sanidade de sementes de fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) obtidas de frutos coletados no solo e na planta. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 11, n. 2, p. 170–175, 2009.

ARAÚJO, E. R. et al. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de aroeira produzidas no estado da Paraíba. Revista Agropecuária Técnica, v. 34, n. 1, p. 9–20, 2013.

ARAÚJO, A. K. O. et al. Sanidade e qualidade fisiológica de sementes de *Chorisia Glaziovii* O. Kuntze tratadas com extratos vegetais. Ciência Florestal, v. 29, p. 649-659, 2019.

AQUINO, C. F.; SALES, N. L. P.; SOARES, E. P. S., MARTINS, E. R. Ação e caracterização química de óleos essenciais no manejo da antracnose do maracujá. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 34, n. 4, p. 1059-1067, 2012.

BALINI, L. C. et al. Identificação pela técnica de Pcr-Rflp, de *Aspergillus spp.* isolados de grãos de soja e milho. Revista Brasileira de Energias Renováveis, v. 4, p. 83–99, 2015.

BALLESTRERI, A. A. et al. Morphophysiological responses of forest tree species conducted under different levels of shading in the enrichment of degraded ecosystem. Forest Ecology and Management, v. 488, p. 119032, 2021.

BARROCAS, E. M., MACHADO, J. C. Introdução a patologia de sementes e testes convencionais de sanidade de sementes para a detecção de fungos fitopatogênicos. Informativo Abrates: Inovações Tecnológicas em Patologia de Sementes, v. 20, n. 3, p. 74-79, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Manual de análise sanitária de sementes. Brasília: Mapa/ACS, 200 p., 2009a.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365 p. 2009b.

BOTELHO, L. DA S.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Fungos associados às sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*): incidência, efeito na germinação e transmissão para as plântulas. Summa Phytopathologica, v. 34, n. 4, p. 343–348, 2008.

BRESSAN, D. F. et al. Patologia e germinação de sementes de angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida* (Benth) Brenan) e potencial de óleos essenciais no controle de *rhizoctonia sp.* in vitro e no tratamento de sementes. Revista técnico-científica do CREA-PR, p. 1–18, 2018.

CHEROBINI, E. A. I.; MUNIZ, M. F. B., BLUME, E. Avaliação da qualidade de sementes e mudas de cedro. Ciência Florestal, v. 18, n. 1, p. 65-73, 2008.

FERREIRA, F. A. Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 1989.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A. Dormência em sementes florestais. Colombo: Embrapa Florestas. 2000. 27p. (Embrapa Florestas. Documentos, 40).

GIULIANO, I. et al. Identificação de fungos em sementes de *Dimorphandra mollis* e efeito de diferentes tratamentos. Fitopatologia Brasileira, v. 30, n. 5, p. 553–553, 2005.

GOMES, S. V. F., NOGUEIRA, P. C. L., MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. Eclética Química, v. 36, n. 1, p. 64-77, 2011.

GONÇALVES, A. C. et al. Estrutura genética espacial em populações naturais de *Dimorphandra mollis* (Fabaceae) na região norte de Minas Gerais, Brasil. Revista Brasileira Botânica, v.2, p. 325–332, 2010.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; ZANON, A.; AUER, C. G.; FOWLE, J. A. P. Efeito de fungicidas aplicados nas sementes, na emergência de plântulas de erva-mate (*Ilexpara guariensis* St. Hil.). Boletim de Pesquisa Florestal, v. 39, p. 31-39, 1999.

GOLDFARB, M. et al. Incidência de fungos e qualidade fisiológica de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) após o armazenamento criogênico. Biotemas, v. 23, n. 1, p. 19–26, 2010.

KOBAYASTI, L. et al. Incidência de fungos em sementes de pinhão-manso. Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 41, n. 3, p. 385–390, 2011.

LANDIM, L. P.; COSTA, J. G. M. *Dimorphandra gardneriana* Tulasne (Fava d'anta) - Uma abordagem etnobotânica e riscos de extinção. Revista da Biologia, v. 9, n. 1, p. 6–11, 2012.

LEE, Y.; KIM, J.; SHIN, S.; LEE, S.; PARK II. Antifungal activity of *Myrtaceae* essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. Flavour Fragrance Journal, v. 23, p. 23-28, 2008.

LEITE, R. P.; MEDEIROS, J. G. F.; NASCIMENTO, L. C.; ARAÚJO NETO, A. C.; GOMES, E. C. S.; MALTA, A. O. Qualidade fisiológica de sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) tratadas com extratos vegetais. Scientia Plena, v. 8, n. 4, p. 1-5, 2012.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família *Lamiaceae*: importantes óleos essenciais com ação biológica e antioxidante. Revista Fitos Eletrônica, v. 3, n. 3, p. 14-24, 2013.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 5º ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2008.

MACHADO, J. C. Patologia de sementes: fundamentos e aplicações. Brasília: Ministério da Educação; 1988.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MARTINELLI-SENEME, A.; POSSAMAI, E.; SCHUTA, L. R.; VANZOLINI, S. Germinação e sanidade de sementes de *Bauhinia variegata*. *Revista Árvore*, v. 30, n. 5, p. 719-724, 2006.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; EVANGELISTA, D. J. Plantas medicinais. Viçosa: UFV, 220 p., 2002.

MAZAROTTO, E. J. et al. Association of Fusarium and Phomopsis with Peroba Rosa Seeds. *Floresta e Ambiente*, v. 26, n. 2, 2019.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Bioma Cerrado. Disponível em: <<https://antigo.mma.gov.br/biomas/cerrado.html>>. Acesso em: 29 dez. 2021.

MIRANDA, C. A. S. F. et al. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. *Revista Ciência Agrônômica*, v. 47, n. 1, p. 213–220, 2016.

MITTERMEIER, R. A.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; BRANDON, K. A brief history of biodiversity conservation in Brazil. *Conservation Biology*, v. 19, n. 3, p. 601-611, 2005.

NATHWANI, D.; WOOD, M. J. Penicillins: A current review of their clinical pharmacology and therapeutic use. *Drugs*, v. 45, n. 6, 1993.

NUNES, J. D. et al. O extrativismo da fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) na região do Norte de Minas. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 14, n.2, p. 370–375, 2012.

PACHECO, M. V. et al. Germination and vigor of *Dimorphandra mollis* Benth. seeds under different temperatures and substrates. *Revista Arvore*, v. 34, n. 2, p. 205–213, 2010.

PEIXINHO, G. S.; RIBEIRO, V. G.; AMORIM, E. P. R. Controle da Podridão seca (*Lasiodiplodia theobromae*) em cachos de videira cv. Itália por óleos essenciais e quitosana. *Summa Phytopathologica*, v. 43, n. 1, p. 26-31, 2017.

PINHEIRO, C. G., LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M. F. B.; REDIN, C. G.; SANTOS, M. V. Efeito da assepsia superficial na germinação e incidência de fungos em sementes de espécies florestais. *Pesquisa Florestal Brasileira*, v. 36, n. 87, p. 253-260, 2016.

RATTER, J. S.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J. F. Analysis of the floristic composition of the Brazilian Cerrado vegetation. III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. *Edinburgh Journal of Botany*, v. 60, p. 57-109, 2003.

SALDANHA, M. A. et al. Sanitary and physiological quality of seeds of *Acca sellowiana*.

Revista Agroambiente, v. 14, 2020.

SALES, N. L. P.; CASTRO, H. A. Efeito da população fúngica e do tratamento químico no desempenho de sementes de ipê-amarelo, ipê-roxo e barbatimão. *Ciência e Prática*, v. 18, n. 1, p. 83-89, 1994.

SARMENTO-BRUM, R. B. C.; SANTOS, G. R.; CASTRO, H. G.; GONÇALVES, C. G.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; NASCIMENTO, I. R. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a antracnose do sorgo. *Biosci. J.*, v. 29, n. 1, p. 1549-1557, 2013.

SEIXAS, P. T. L.; CASTRO, H. C.; SANTOS, G. R.; CARDOSO, D. P. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 13 (especial), p. 523-526, 2011.

SOARES, E. P. S. et al. Fisiologia das sementes de Fava D'antas (*Dimorphandra mollis* Benth) após tratamento térmico, biológico e extratos. Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia – Fortaleza/CE. Anais 2011.

SOUSA, A. D. A.; NASCIMENTO, C. R.; SILVA, A. D. C. D.; BARBOSA, R. N. T.; ANDRADE, J. K. C.; NASCIMENTO, J. F. Incidência de fungos associados a sementes de ipê-rosa (*Tabebuia impetiginosa*) e ipê-amarelo (*Tabebuia ochracea*) em Roraima. *Revista Agroambiente On-line*, v. 6, n. 1, p. 34-39, 2012.

SOUSA, R. M. S.; SERRA, I. M. R. S.; MELO, T. A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. *Summa Phytopathologica*, v. 38, n. 1, p. 42-47. 2012.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. *Revista Biotemas*. v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

SOUZA, H. A. V. et al. A large historical refugium explains spatial patterns of genetic diversity in a Neotropical savanna tree species. *Annals of Botany*. v. 119, p. 239–252, 2017.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology*. v. 143, p. 183-189, 2010.

WALKER, C. et al. Transmissão e Patogenicidade de *Phomopsis* sp. Associadas às Sementes de Angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida* Benth.). *Floresta e Ambiente*, v. 20, n. 2, p. 216–222, 2013.